

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

JC996 U.S. PTO  
09/982964  
10/22/01

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2001年 4月13日

出 願 番 号

Application Number:

特願2001-115014

出 願 人

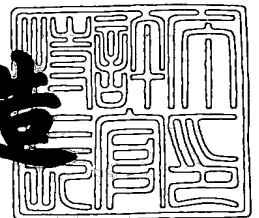
Applicant(s):

株式会社島津製作所

2001年 7月27日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3066438

【書類名】 特許願

【整理番号】 K1000812

【提出日】 平成13年 4月13日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 27/447

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内

【氏名】 加地 徹

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内

【氏名】 山本 林太郎

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所内

【氏名】 中村 伸

【特許出願人】

【識別番号】 000001993

【氏名又は名称】 株式会社島津製作所

【代理人】

【識別番号】 100085464

【弁理士】

【氏名又は名称】 野口 繁雄

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 037017

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

特 2 0 0 1 - 1 1 5 0 1 4

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9110906

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 電気泳動装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 板状部材の内部に 1 又は複数の流路が形成され、前記板状部材の一表面の前記流路の両端に対応する位置に前記流路に達する孔が形成された電気泳動部材を使用し、電気泳動部材の前記流路の両端に電圧を印加するための電圧印加部と、電気泳動部材の前記流路内のサンプルを検出するための検出部とを備えた電気泳動装置において、

前記電気泳動部材を保持するための電気泳動部材保持部を備え、この電気泳動部材保持部は同時に電気泳動操作を行なう複数の電気泳動部材を保持するものであることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項 2】 電気泳動部材保持部は、複数の電気泳動部材を平面部材上に保持し、電気泳動部材を保持する平面内で前記平面部材を回転させることにより複数の電気泳動部材の前記流路の一端をサンプル分注位置に順次配置する機能を備えており、

前記サンプル分注位置に配置された前記流路の一端に対応する孔にサンプルを分注するための分注機構をさらに備えている請求項 1 に記載の電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、微量のタンパクや核酸、薬物などを分析する電気泳動装置に関し、さらに詳しくは、板状部材の内部に、サンプルを電気泳動させるための 1 又は複数の流路が形成された電気泳動部材を用いる電気泳動装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

極微量のタンパクや核酸などを分析する場合には、従来から電気泳動装置が用いられており、その代表的なものとしてキャピラリー電気泳動装置がある。キャピラリー電気泳動装置は、内径が  $100\mu\text{m}$ （マイクロメートル）以下のガラスキャピラリー（以下、単にキャピラリーともいう）内に泳動媒体を充填し、一端

側にサンプルを導入し、両端をバッファ液に接液させ、バッファ液を介して両端間に高電圧を印加して分析対象物をキャピラリー内で展開させるものである。キャピラリーは容積に対して表面積が大きい、すなわち冷却効率が高いことから、高電圧の印加が可能となり、DNA（デオキシリボ核酸）などの極微量サンプルを高速かつ高分解能にて分析することができる。

## 【 0 0 0 3 】

キャピラリーはその外径が100～500  $\mu$ m程度と細く破損しやすいため、ユーザーが行なうべきキャピラリー交換時の取扱いが容易でないという問題を有する。また、放熱が十分でない場合が生じ、分離状態に悪影響を及ぼすという問題もあった。さらに、バッファ液を介してキャピラリーの両端に電圧を印加するので、少なくともバッファ液との接液に必要な長さ寸法が必要であり、ある長さ以下には設計できないという問題もあった。

## 【 0 0 0 4 】

そこで、キャピラリーに代わって、分析の高速化、装置の小型化が期待できる形態として、D. J. Harrison et al./ Anal. Chem. 1993, 283, 361-366 に示されているように、2枚の基材を接合して形成された電気泳動部材（以下、泳動チップともいう）が提案されている。その泳動チップの例を図3に示す。

## 【 0 0 0 5 】

泳動チップ21は、一对の透明板状の無機材料（例えばガラス、石英、シリコンなど）又はプラスチックからなる基材21a、21bからなり、半導体製造プロセスに用いられる写真製版技術、又はマイクロマシニング技術により、一方の基材21bの表面に互いに交差する泳動用キャピラリー溝23、25を形成し、他方の基材21aにはその溝23、25の端に対応する位置に貫通孔をアノードリザーバ27a、カソードリザーバ27c、サンプルリザーバ27s、ウエイストリザーバ27wとして設けたものである。泳動チップ21は、両基材21a、21bを（C）に示すように重ねて接合した状態で使用される。このような泳動チップは2本の溝（channel）が交差して形成されていることから、クロスチャンネル型泳動チップとも呼ばれる。

## 【 0 0 0 6 】

この泳動チップ21を用いて電気泳動を行なう場合には、分析に先立って、例えばシリンジを使った圧送により、いずれかのリザーバ、例えばアノードリザーバ27aから溝23、25内及びリザーバ27a、27c、27s、27w内に泳動媒体を充填する。次いで、リザーバ27a、27c、27s、27w内に充填された泳動媒体を除去し、短い方の溝（サンプル注入流路）23の一方の端に対応するサンプルリザーバ27sにサンプルを注入し、他のリザーバ27a、27c、27wにバッファ液を注入する。

## 【0007】

泳動媒体、サンプル及びバッファ液を注入した泳動チップ21を電気泳動装置に装着する。各リザーバ27a、27c、27s、27wに所定の電圧を印加し、サンプルを流路23中に泳動させて両流路23、25の交差部29に導く。各リザーバ27a、27c、27s、27wに印加する電圧を切り換えて、長い方の溝（分離流路）25の両端のリザーバ27a、27c間の電圧により、交差部29に存在するサンプルを流路25内に注入する。流路25内にサンプルを注入した後、リザーバ27s内に収容されているサンプルをバッファ液で置換する。その後、各リザーバ27a、27c、27s、27wに電気泳動用の電圧を印加して、流路25内に注入したサンプルを流路25内で分離させる。流路25の適当な位置に検出器を配置しておくことにより、電気泳動により分離されたサンプルを検出する。検出は、吸光光度法や蛍光光度法、電気化学的又は電気伝導度法などの手段により行なわれる。

## 【0008】

また、泳動チップの流路デザインや泳動媒体の組成などの分析条件は、用途やサンプルに応じて異なる。他の流路デザインの泳動チップとしては、例えば、Yining Shi et al./ Anal. Chem. 1999, 71, 5354-5361に示されているように、放射状に多数の分離流路を備えた泳動チップがある。

また、チャンネルの交差部をもたないストレートチャンネルを備えた泳動チップも使用されている。

## 【0009】

【発明が解決しようとする課題】

図 3 に示したような 1 本の分離流路のみを備えた泳動チップを使用して分析を行なう電気泳動装置は分析効率が悪く、近年要求されている多検体の同時分析に適さないという問題があった。

1 枚の泳動チップに多数の分離流路を備えた泳動チップを使用して分析を行なう電気泳動装置によれば多検体の同時分析を実現できる。しかし、1 枚の泳動チップに多数の分離流路を形成する必要性から流路構成が複雑になるので、泳動チップの製作が困難になり、歩留まりが悪く、泳動チップのコスト、ひいては分析のコストが高くなるという問題があった。

#### 【 0 0 1 0 】

そこで本発明は、流路構成が簡単な電気泳動部材を使用しても多検体の同時分析を実現できる電気泳動装置を提供することを目的とするものである。

#### 【 0 0 1 1 】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明は、板状部材の内部に 1 又は複数の流路が形成され、上記板状部材の一表面の上記流路の両端に対応する位置に上記流路に達する孔が形成された電気泳動部材を使用し、電気泳動部材の上記流路の両端に電圧を印加するための電圧印加部と、電気泳動部材の上記流路内のサンプルを検出するための検出部とを備えた電気泳動装置であって、上記電気泳動部材を保持するための電気泳動部材保持部を備え、この電気泳動部材保持部は同時に電気泳動操作を行なう複数の電気泳動部材を保持するものである。

#### 【 0 0 1 2 】

本発明の電気泳動装置では、電気泳動部材保持部に電気泳動部材を複数配置して、それらの電気泳動部材を使用して多検体の電気泳動分析を同時に行なう。

また、従来の電気泳動装置では、分離流路の有効泳動長を異ならせて多検体の分析を同時に行なう場合、有効泳動長が異なる複数の分離流路を備えた 1 枚の電気泳動部材を予め準備する必要があるので、複数の有効泳動長条件で多検体の分析を同時に行なうことは困難であった。本発明の電気泳動装置では、複数の電気泳動部材を使用するので、異なる有効泳動長をもつ複数種類の電気泳動部材を準備しておき、それらの電気泳動部材から目的に応じた有効泳動長をもつ電気泳動

部材を選択して電気泳動部材保持部に配置するようにすれば、複数の有効泳動長条件で多検体の分析を同時に行なうことができる。

## 【 0 0 1 3 】

## 【発明の実施の形態】

本発明の電気泳動装置において、電気泳動部材保持部は、複数の電気泳動部材を平面部材上に保持し、電気泳動部材を保持する平面内で上記平面部材を回転させることにより複数の電気泳動部材の流路の一端をサンプル分注位置に順次配置する機能を備えており、上記サンプル分注位置に配置された上記流路の一端に対応する孔にサンプルを分注するための分注機構をさらに備えていることが好ましい。その結果、サンプルを自動で分注することができるようになる。

## 【 0 0 1 4 】

## 【実施例】

図 1 は本発明の一実施例を示す斜視図である。図 2 は、図 1 の実施例に装着される多数の分離流路が形成された泳動チップの一例を表す図であり、(A) は一方の基板の上面図、(B) は他方の基板の上面図、(C) は両基板を重ね合わせた状態での上面図、(D) は (C) の円で囲まれた部分を拡大して示す上面図、(E) は (C) の分離流路部分を示す断面図である。

## 【 0 0 1 5 】

まず、図 2 に示す泳動チップについて説明する。

泳動チップ 1 は、一对の透明板状の無機材料（例えばガラス、石英、シリコンなど）又はプラスチックからなる基板 1 a, 1 b により構成される。基板 1 a, 1 b の厚さは例えば 1.1 mm である。

一方の基板 1 b の表面には、半導体製造プロセスに用いられる写真製版技術、又はマイクロマシニング技術により、互いに交差するサンプル導入流路 1 1 及び分離流路 1 3 の組が 1 6 組形成されている。サンプル導入流路 1 1 及び分離流路 1 3 の寸法は例えば幅が 1 0 0  $\mu$ m 程度、深さが 5 0  $\mu$ m 程度である。1 6 組の流路 1 1, 1 3 は、他の組の流路と交差しないようにして、サンプル導入流路 1 1 と交差する側とは反対側の分離流路 1 3 の一端側を要として扇型に配置されている。基板 1 a, 1 b は、分離流路 1 3 の配置に合わせて、扇形に形成されてい



る。

【0016】

他方の基板1aには流路11, 13の端に対応する位置にアノードリザーバ15a、カソードリザーバ15c、サンプルリザーバ15s、ウエイストリザーバ15wとしての貫通孔が形成されている。リザーバ15s, 15wは流路11, 13の組ごとに設けられている。アノードリザーバ15aは扇型配置の要側の各組の分離流路13の一端側で共通である。カソードリザーバ15cは長孔により構成され、各組の分離流路13の他端側で共通である。

【0017】

図2(D)に示すように、サンプルリザーバ15sからのサンプル導入流路11とウエイストリザーバ15wからのサンプル導入流路11は例えば100 $\mu$ mの間隔をもって分離流路13に接続されている。

泳動チップ1は、両基板1a, 1bを重ねて接合した状態で使用される。

このような泳動チップは、多数の分離流路が形成されていることから、Multi-channel Micro-chipとも呼ばれる。

【0018】

図1を用いて電気泳動装置について説明する。

円盤状のマルチチップターンテーブル（電気泳動部材保持部）1が設けられている。テーブル3の上に例えば10枚の泳動チップ1が保持されている。10枚の泳動チップ1は、リザーバ15a, 15c, 15s, 15wが形成されている基板1aを上側にして、扇形状の要側をテーブル3の中心に向けて、テーブル3上に等間隔に配列されている。泳動チップ1の配列は、例えばテーブル3の表面に泳動チップ1の扇形状に対応して凹部を形成しておいたり、泳動チップ1に位置合わせ用の孔を形成しておき、その孔に対応する位置にピンなどの突起部材を配置しておいたりすることにより実現できる。テーブル3は、泳動チップ1を保持する平面内で、テーブル3の中心を回転軸としてテーブル3を回転させる機構（図示は省略）を備えている。

【0019】

テーブル3の近傍に、サンプルトランスファーヘッド5を備えたサンプル分注

機構と、多数の検体を収容するためのサンプルプレート7が設けられている。図ではサンプル分注機構のヘッド5以外を構成する部分の図示は省略されている。ヘッド5には、泳動チップ1の隣り合う8つのサンプルリザーバ13aの位置に対応して8本のノズル5aが設けられている。サンプルプレート7には、ヘッド5のノズル5aの間隔に対応して、検体を収容するための384穴(24×16)のウエル7aが形成されている。

また、図示は省略されているが、テーブル3の近傍には、泳動チップ1のリザーバ15a, 15c, 15s, 15wに対応する位置にそれぞれ電極を備えた電圧印加部と、泳動チップ1の分離流路13内のサンプルを検出するための検出部が配置されている。

#### 【0020】

図1及び図2を参照してこの電気泳動装置の動作を説明する。

予め流路13, 15内に分離媒体が充填され、リザーバ15a, 15c, 15s, 15w内にバッファ液が充填された10枚の泳動チップ1をテーブル3に配置する。ここでは予め分離媒体及びバッファ液が充填された泳動チップ1を用いているが、本発明はこれに限定されるものではなく、テーブル3の近傍に分離媒体やバッファ液などの泳動媒体を充填するための分注機構を配置しておき、泳動チップ1をテーブル3には位置した後に、その分注機構により、泳動チップ1に泳動媒体を充填するようにしてもよい。

#### 【0021】

テーブル3により、最初にサンプルを分注する8つのサンプルリザーバ15sをサンプル分注位置9に位置決めする。

サンプル分注機構により、ヘッド5を駆動させてサンプルプレート7の異なる8つのウエル7aに収容された検体を8本のノズル5aに吸引した後、ヘッド5をサンプル分注位置9に移動させ、ノズル5aに吸引した検体を8つのサンプルリザーバ15aに同時に分注する。

#### 【0022】

サンプル分注機構によりヘッド5を上昇させた後、テーブル3を回転させて次の8つのサンプルリザーバ15sをサンプル分注位置9に位置決めする。そして

上記のサンプル分注動作と同様にして、8つのサンプルリザーバ15sに検体を同時に分注する。

テーブル3によりサンプルリザーバ15sをサンプル分注位置9に順次位置決めし、サンプル分注機構によりサンプルリザーバ15sへのサンプルの分注を順次行なう。

このようにして、検体を自動で分注する。

#### 【0023】

テーブル3上に配置された泳動チップ1のすべてのサンプルリザーバ15sにサンプルを分注した後、各泳動チップ1のリザーバ15a, 15c, 15s, 15wにそれぞれ電極を配置する。電圧印加部により所定の電圧を印加して、サンプルリザーバ15sに収容したサンプルをサンプル導入流路11を介して分離流路13に導入し、分離流路13内でアノードリザーバ15a側に向かって分離泳動させる。

#### 【0024】

例えば各分離流路13のアノードリザーバ15a付近に到達した分離成分を分離流路13ごとに認識して検出する検出器を配置し、分離成分を検出する。ただし、分離成分の検出方法はこれに限定されるものではなく、例えば分離流路13内でサンプルを分離させ、泳動を停止させた後、分離流路13の所定範囲内での分離成分の分布を検出できる検出器などを用いることもできる。

このように、本発明によれば、流路構成が簡単な泳動チップを複数使用して多検体の同時分析を実現できる。本発明では、泳動チップ1枚当りの分離流路数を減らし、泳動チップを複数枚使用することにより、ハイスループットを実現している。本発明によれば、泳動チップの製作が容易なため、歩留まりよくチップを製作することが可能となる。

#### 【0025】

上記の実施例では、同じ構成の複数枚の泳動チップ1を用いているが、本発明はこれに限定されるものではなく、分離流路の有効泳動長が異なる複数種類の泳動チップ1をテーブル3に配置することもできる。これにより、複数の有効泳動長条件で多検体の分析を同時に行なうことができる。

上記の実施例では、電気泳動部材保持部を構成する円盤状のテーブル 3 に複数枚の泳動チップ 1 を配置しているが、本発明はこれに限定されるものではなく、電気泳動部材保持部は複数枚の泳動チップを保持できる構成であればどのような構成であってもよい。

また、本発明で利用できる電気泳動部材は実施例で示した泳動チップ 1 に限定されるものではなく、1 本のみ又は複数本の分離流路を備えた電気泳動部材を使用することができる。

【 0 0 2 6 】

【発明の効果】

本発明の電気泳動装置では、電気泳動部材を保持するための電気泳動部材保持部を備え、この電気泳動部材保持部は複数の電気泳動部材を保持する機能を備えているようにしたので、流路構成が簡単な電気泳動部材を使用しても多検体の同時分析を行なうことができる。

さらに、多検体の電気泳動において、泳動チップ 1 枚あたりの分離流路数を減らすことができるため、泳動チップの製作が容易になり、泳動チップ製作の歩留まりを向上させることができ、ひいては分析のコストを低減することができる。

さらに、電気泳動部材から目的に応じた有効泳動長をもつ電気泳動部材を選択して電気泳動部材保持部に配置するようにすれば、複数の有効泳動長条件で多検体の分析を同時に行なうことができる。

【 0 0 2 7 】

本発明において、電気泳動部材保持部は、複数の電気泳動部材を平面部材上に保持し、電気泳動部材を保持する平面内で上記平面部材を回転させることにより複数の電気泳動部材の流路の一端をサンプル分注位置に順次配置する機能を備えており、上記サンプル分注位置に配置された上記流路の一端に対応する孔にサンプルを分注するための分注機構をさらに備えているようにすれば、サンプルを自動で分注することができるようになる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

一実施例を示す斜視図である。

【図 2】

図 1 の実施例に装着される多数の分離流路が形成された泳動チップの一例を表す図であり、(A) は一方の基板の上面図、(B) は他方の基板の上面図、(C) は両基板を重ね合わせた状態での上面図、(D) は (C) の円で囲まれた部分を拡大して示す上面図、(E) は (C) の分離流路部分を示す断面図である。

【図 3】

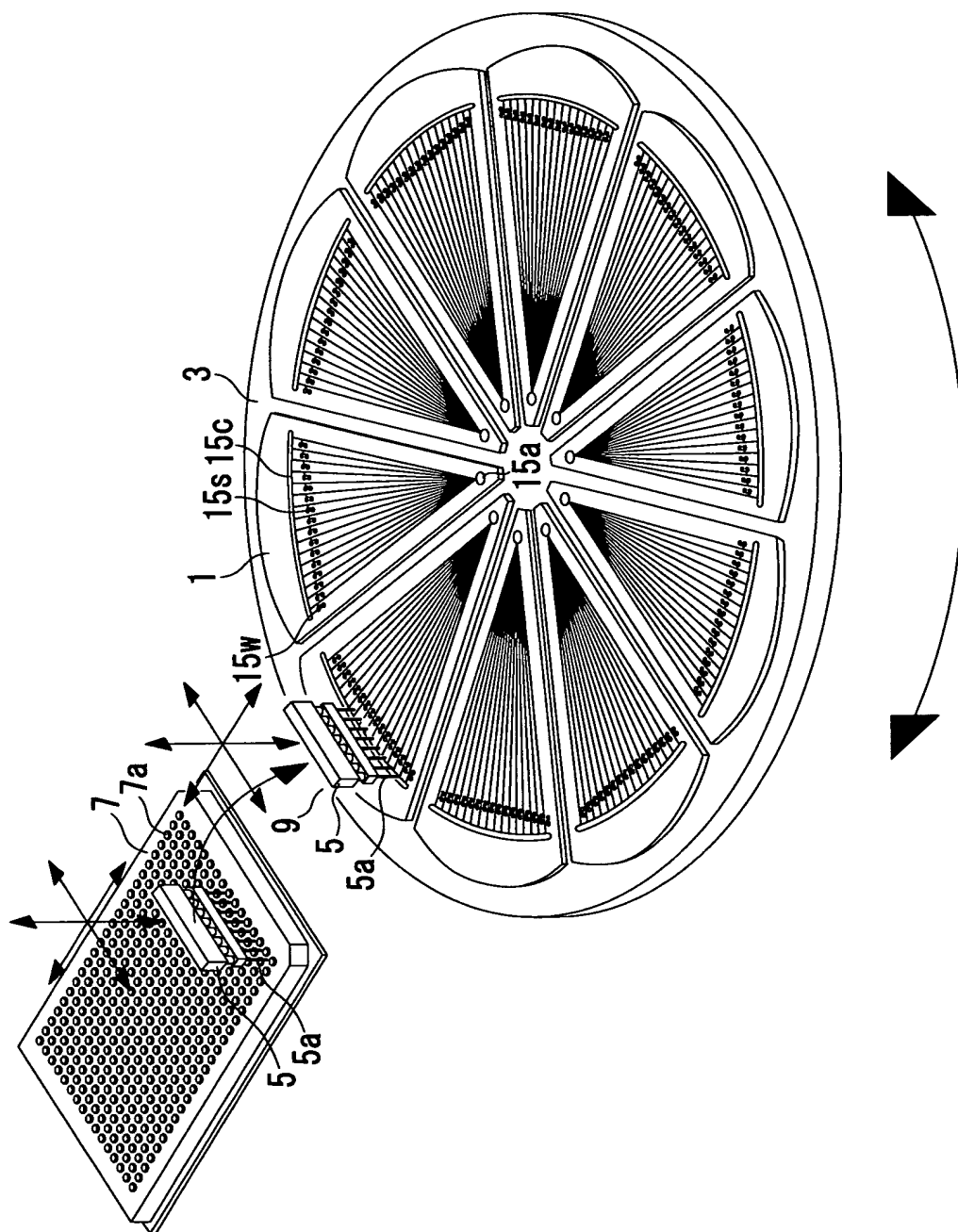
泳動チップの一例を表す図であり、(A) は一方の基材の上面図、(B) は他方の基材の上面図、(C) は両基材を重ね合わせた状態での側面図である。

【符号の説明】

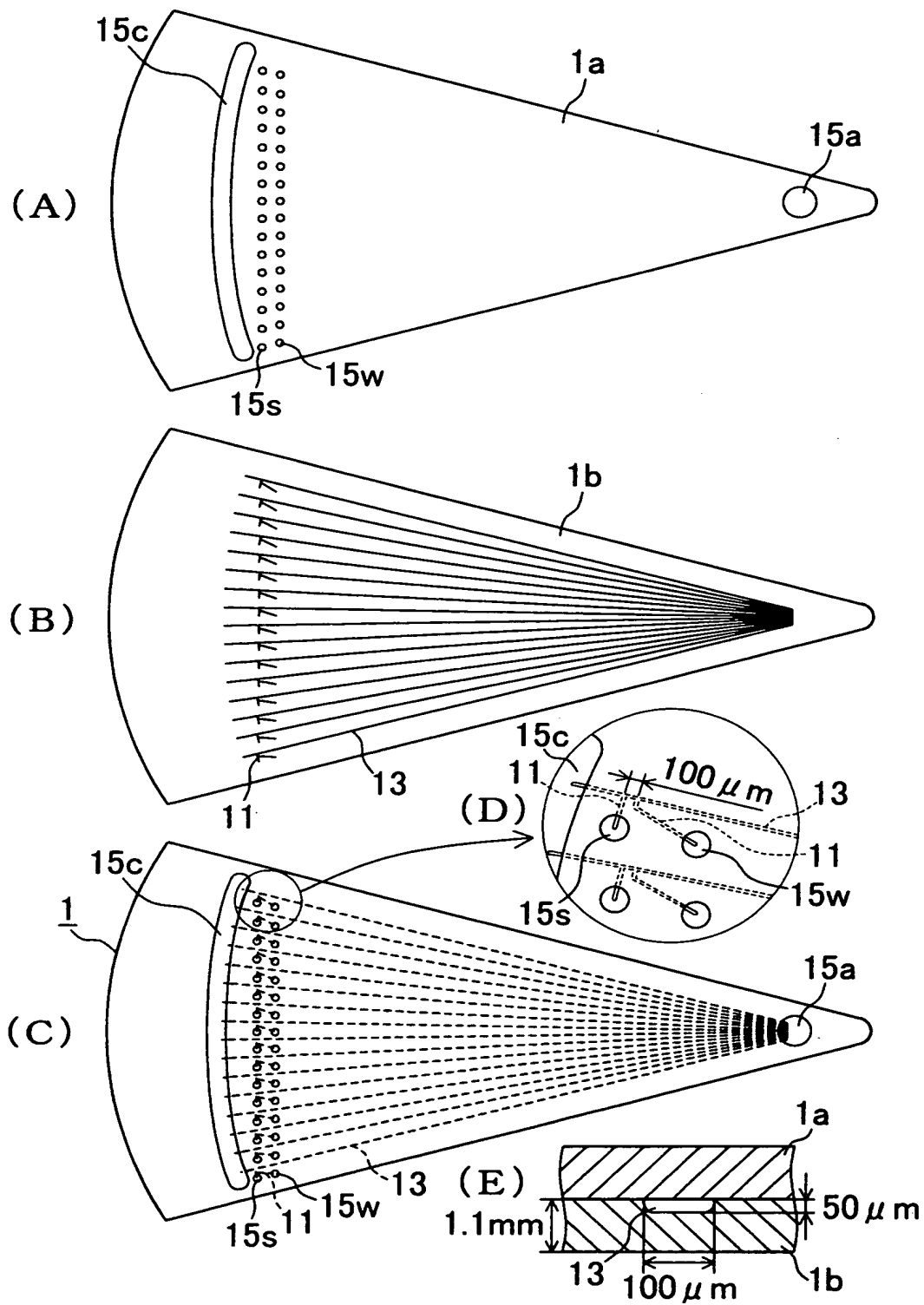
- 1            泳動チップ
- 1 a, 1 b    基板
- 3            マルチチップターンテーブル
- 5            サンプルトランスファーヘッド
- 5 a          ノズル
- 7            サンプルプレート
- 7 a          ウエル
- 9            サンプル分注位置
- 1 1          サンプル導入流路
- 1 3          分離流路
- 1 5 a        アノードリザーバ
- 1 5 c        カソードリザーバ
- 1 5 s        サンプルリザーバ
- 1 5 w        ウエイストリザーバ

【書類名】 図面

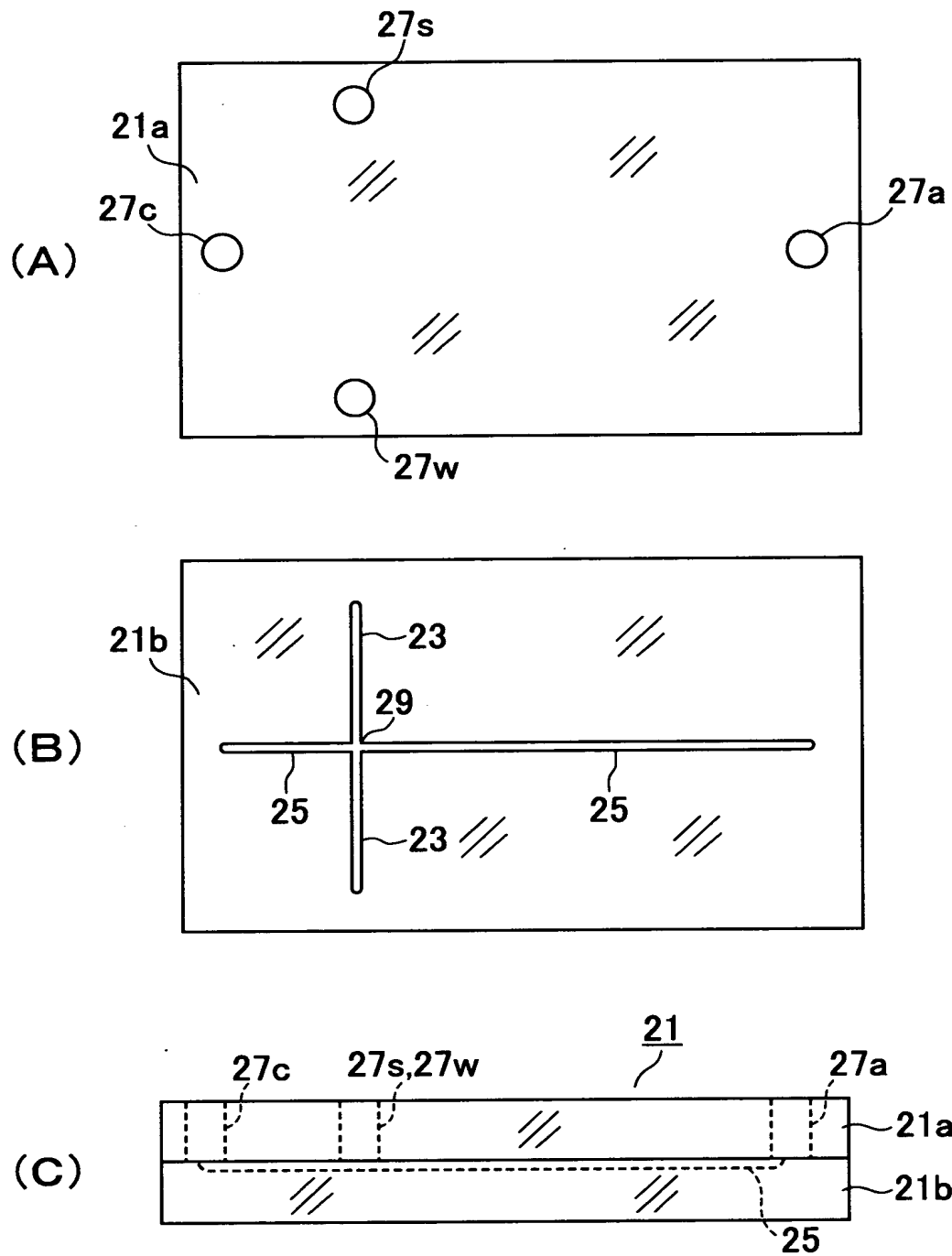
【図 1】



【図 2】



【図 3】





【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 流路構成が簡単な電気泳動部材を使用して多検体の同時分析を実現する。

【解決手段】 テーブル 3 により、最初にサンプルを分注する泳動チップ 1 の 8 つのサンプルリザーバをサンプル分注位置 9 に位置決めする。サンプル分注機構により、ヘッド 5 を駆動させてサンプルプレート 7 の異なる 8 つのウエル 7 a に収容された検体を 8 本のノズル 5 a に吸引した後、ヘッド 5 をサンプル分注位置 9 に移動させ、ノズル 5 a に吸引した検体を 8 つのサンプルリザーバに同時に分注する。テーブル 3 によりサンプルリザーバをサンプル分注位置 9 に順次位置決めし、サンプル分注機構によりサンプルリザーバへのサンプルの分注を順次行なう。各泳動チップ 1 のリザーバにそれぞれ電極を配置し、電圧印加部により所定の電圧を印加して、サンプルリザーバに収容したサンプルを分離流路内で分離泳動させ、検出器により検出する。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000001993]

1. 変更年月日 1990年 8月27日

[変更理由] 新規登録

住 所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地  
氏 名 株式会社島津製作所